

SULFATED POLYSACCHARIDE DS 4152 AND VASCULARIZATION INHIBITOR AND ANTITUMOR AGENT CONTAINING THE SAME

Patent Number: JP63119500
Publication date: 1988-05-24
Inventor(s): INOUE KAZUKIYO; others: 03
Applicant(s): DAI ICHI SEIYAKU CO LTD
Requested Patent: JP63119500
Application Number: JP19870125443 19870522
Priority Number(s):
IPC Classification: C07K15/14; A61K31/725; A61K37/02; C08B37/00; C12P19/04
EC Classification:
Equivalents: JP2544136B2

Abstract

NEW MATERIAL:A sulfated polysaccharide DS 4152 having the following physical and chemical properties. Molecular weight, 29,000+ or -3,000; elemental analysis (%), C 24.42-25.76, H 3.34-3.98; N 0.51-0.89, S 10.6-11.7, P 0.77-1.06; sugar content, 57+ or -3; protein content, 1+ or -0.5; specific rotation, $[\alpha]_D^{25} = -37$ or -1 deg. (0.5% aqueous solution); main IR absorption band, 1,240, 840 (shoulder), 810 (cm^{-1}); KBr; solubility, easily soluble in water and almost insoluble in organic solvents such as ether, benzene, chloroform, methanol, ethanol, etc.; pH, 6-8 (3% aqueous solution); etc.

USE:A vascularization inhibitor and antitumor agent. The activity can be promoted when combined with a steroid drug.

PREPARATION:For example, pyrogenic substance, etc., having a molecular weight of $\geq 15 \times 10^4$ are removed by a proper molecular weight fractionation method from DF 4639 separated from a cultured product of *Arthrobacter* sp. AT (FERM P-5255).

Data supplied from the esp@cenet database - 12

③ 日本国特許庁(JP)

④ 特許出願公開

⑤ 公開特許公報(A)

昭63-119500

⑥ Int. Cl.

識別記号

庁内整理番号

⑦ 公開 昭和63年(1988)5月24日

C 07 K 15/14
A 61 K 31/725ABL
ABY

8318-4H

7252-4C ※審査請求 未請求 発明の頁 5 (全13頁)

⑧ 発明の名称 硫酸化多糖体DS 4152並びにこれを含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤

⑨ 特 願 昭62-125443

⑩ 出 願 昭62(1987)5月22日

優先権主張 ⑪ 昭61(1986)5月23日 ⑫ 日本(JP) ⑬ 特願 昭61-118847

⑭ 発 明 者 井 上 和 彦 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内

⑮ 発 明 者 田 中 紀 子 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内

⑯ 発 明 者 是 永 博 東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究所内

⑰ 出 願 人 第一製薬株式会社 東京都中央区日本橋3丁目14番10号

⑱ 代 理 人 弁理士 有賀 三幸 外2名

最終頁に続く

明 細 書

ガラクトース標準)

1. 発明の名称

蛋白含量(%): 1 ± 0.5 (ローリー・フォ

硫酸化多糖体DS 4152 並びにこれを含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤

リン法、牛血清アルブミン標準)

2. 特許請求の範囲

(4) 比旋光度

1. ナトリウム塩として下記の物理化学的性質を有する硫酸化多糖体DS 4152。

 $(\alpha)_D^{20} -37^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (0.5%水溶液)

(5) 紫外線吸収スペクトルにおける主要吸収有

(1) 分子量(ゲルろ過法による)

1240, 840(肩), 810(cm^{-1} ; KBr)22000 \pm 3000

(6) 溶解性

(2) 元素分析値

水に易溶。エーテル、ベンゼン、クロロホルム、メタノール、エタノール等の有機溶媒

C 24.42~25.76% H 3.34~3.98%

には殆ど不溶。

N 0.51~0.59% S 1.06~1.17%

P 0.77~1.06%

(7) 着色反応

(3) 糖および蛋白質の含量

フェノール-硫酸、アンスロン-硫酸、ビ

糖含量(%): 57 ± 3 (フェノール-硫酸法、

ムレフト反応およびローリー・フォリン反応

は陽性。水解後のエルソン・メルガン反応およびムンヒドリン反応も陽性。カルバゾール反応および坂口反応は陰性。

(8) 塩基性、中性、酸性の区別

pH 6~8 (3% 炭酸水溶液)

(9) 構成糖および炭酸基、糖の含量

D-グルコース、D-ガラクトース、30.Na

およびP(糖)の含有モル比はD-グルコースを10としてそれぞれ約10:81:73:6である。

(10) 構成アミノ酸およびアミノ糖

炭加水分解物のアミノ酸分析計による分析で、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シロアミノピロリン酸、グルコサミンおよびムラニン酸の存在を認める。

次の薬品第5項記載の血管新生抑制剤。

4. 炭酸化多糖体DP 4152 と、ステロイド剤とを有効成分として含有する抗腫瘍剤。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、新規な炭酸化多糖体DP 4152並びにこれを有効成分として含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤並びにこれと共にステロイド剤を含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤に関する。

(従来の技術及びその問題点)

従来、シロコフカスDP 47-25の発酵生産物中に腫瘍抑制作用、感染抑制作用およびインターフェロン誘起作用を有する炭酸化多糖体DP 4639 が存在することが知られて

2. 炭酸化多糖体DP 4152 を有効成分として含有する血管新生抑制剤。

2. リューマチ性関節炎、増殖性関節炎、乾癬、糖尿病性関節炎、未熟児網膜症に有効な特許請求の範囲第2項記載の血管新生抑制剤。

4. 炭酸化多糖体DP 4152 を有効成分として含有する抗腫瘍剤。

5. 炭酸化多糖体DP 4152 と、ステロイド剤とを有効成分として含有する血管新生抑制剤。

4. ステロイドが糖質コルチ：iド類、黄体ホルモン類、エストラン類及びアンドロスタン類から選ばれたものである特許請求の範囲第6項記載の血管新生抑制剤。

7. リューマチ性関節炎、増殖性関節炎、乾癬、糖尿病性関節炎、未熟児網膜症に有効な特許請求の範囲第7項記載の血管新生抑制剤。

いた(特開昭56-67301号、特開昭57-42627号および特開昭59-25329号)。

本発明者らは、種々の有用性の期待される炭酸化多糖体DP 4639 について生物学的特性を明らかにすべく検討をかねた結果、DP 4639 が強い発癌性を有することを知った。

(問題を解決するための手段)

そこで、本発明者らは、この発癌性物質を除去すべく、更に研究をかねたところ、DP 4639 は、いくつかの成分の混合物であり、そのうちのDP 4152 と名づけられた一成分は発癌性がなく、しかも優れた血管新生抑制作用及び抗腫瘍作用を有することを見出した。

更にまた、本発明者は、このDS 4152 とステロイド剤とを組合せると血管新生抑制作用及び抗腫瘍作用が相乗的に増強されることを見出した。

本発明は、上記の如見に基づくものであり、その目的は、新規に免疫化多糖体DS 4152を提供するものである。

また、本発明の他の目的は、免疫化多糖体DS 4152を有効成分として含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤を提供するものである。

更に、本発明の他の目的は、免疫化多糖体DS 4152とステロイド剤とを有効成分として含有する血管新生抑制剤及び抗腫瘍剤を提供するものである。

本明細書中の「血管新生抑制」とは、迄の

発育、実体形成、創傷の治癒等に極めて重要なだけでなく、調節リユーマチを含む慢性炎症、免疫応答、腫瘍増殖等の病的状態においてもその病体の進展に深く関与している血管の新生作用を抑制することをいう。したがって、血管新生抑制剤は、上記血管の新生作用が関与する諸疾患、例えばリユーマチ性関節炎、増殖性網膜炎、乾眼、糖尿病性網膜炎、未熟児網膜症等の治療、予防に有用なものである。特に腫瘍は強い血管新生を促し、新生された血管より供給される血液がさらに腫瘍の増殖と進展を促進するとされているので、抗腫瘍剤としても有効である。

本発明の免疫化多糖体DS 4152は、アルモロパクター 19.A7-25 (工業技術院生

物工業技術研究所には、Microsome 19.A7-25として、FERM P-5255及びAntibacterial 19.A7-25としてFERM SP-1357の番号で登録されている)の培養物から分離されるDF 4639 (特開昭56-67301号参照)から、その中に含まれる分子量約 1.5×10^4 以上の発熱性物質等を適当な分子量分離法、例えばゲルろ過法や限外ろ過法、アルコール沈降法で除くことによつて得られる。

すなわち、ゲルろ過法によればDF 4639を適当なゲルろ過担体、例えば、セファクリル (Sephacryl S-300 (ファルマシア製))を用いてゲルろ過を行い、得られるフラクションについて高速ゲルろ過クロマトグラフィ

(東洋ソーダ製63000 SWカラム使用)を行い、排除限界(ボイド・ボリューム、void volume)にピークを示すフラクション(8面分)とボイド・ボリュームにピークを示す分子量の約 $2 \times 10^4 \sim 8 \times 10^4$ の範囲に抽出されるフラクション(16面分)をそれぞれ、透析する。

また、限外ろ過は適当な膜(例えばAmicon社製のYM10、YM30、XM50、PM30やMillipore社製のNOVA100、OMEGA100、NOVA50、OMEGA50等特にYM10)を用い、窒素ガスによる加圧またはペリスメリック(peristaltic)ポンプによつて加圧(0.5~5 kg/cm²程度)し、透過液をDS 4152として集めればよい。使用液は、水-エタ

特開昭63-119500(4)

C 24.42~25.70% N 3.34~3.88%

H 0.51~0.89% S 1.06~1.17%

P 0.77~1.06%

(1) 糖および蛋白質の含量

糖含量(%): 5.7 ± 3 (フェノール-硫酸法、ガラクトース標準)

蛋白質含量(%): 1 ± 0.5 (ローリー・フォリン法、牛血清アルブミン標準)

(4) 比旋光度

$(\alpha)_D^{25} -37^\circ \pm 1^\circ$ (0.5%水溶液)

(5) 紫外線吸収スペクトルにおける主要吸収帯
1240, 840 (nm), 810 (cm^{-1} ; KBr)

(6) 溶解性

水に易溶。エーテル、ベンゼン、クロロホルム、メタノール、エタノール等の有機溶媒には殆ど不溶。

(7) 糖成アミノ酸およびアミノ酸

加水分解物のアミノ酸分析計による分析で、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シロイソレウチン酸、グルコサミンおよびムコサミン酸の存在を認める。

以上の Ds 4152 は、後記実施例で示す如く、単独でも血管新生抑制作用を有するものであるが、ステロイド剤と配合することにより、更に優れた血管新生抑制作用を示す。

尚、本発明の血管新生抑制剤にかいては、Ds 4152 の代りにヘパリン、低分子ヘパリン等を使用することもできる。

従来、プレドニゾン、コルチカルアセトニゾン、デキサメタゾン等のステロイドホルモンが、癌腫療法、関節炎、ヘルペス

ノール(10:2~3)または水が適量であり、4℃乃至室温で行なうのが一般的である。

得られた各透析内液を最終液を通し、ろ液を数倍量のエタノール中に投下することにより生成する白色沈殿を捕め、90%エタノール、エタノール、アセトンの順に洗った後、減圧乾燥すれば、目的とする Ds 4152 (1画分)と発熱性物質(2画分)が各々得られる。

こうして得られる Ds 4152 は以下に述べる物理化学的諸性質を示す。下記の物性はそのナトリウム塩についてのものである。

(1) 分子量(ゲルろ過法による)

29000 ± 3000

(2) 元素分析値(300°Fのものを示す)

ルン、メタノール、エタノール等の有機溶媒には殆ど不溶。

(7) 呈色反応

フェノール-硫酸、アンスロン-硫酸、ビュレット反応およびローリー・フォリン反応は陽性。水溶液のエルソン・マルガン反応およびエンヒドリン反応も陽性。カルベソール反応および坂口反応は陰性。

(8) 塩基性、中性、酸性の区別

pH 6~8 (3%炭酸水溶液)

(9) 糖成糖および炭水化物、糖の含量

D-グルコース、D-ガラクトース、30,Na

およびP(糖)の含有率比はD-グルコースを10としてそれぞれ約10:61:73:6である。

一疾患に実験的に誘導された血管新生を抑制する作用を有することが報告されている

(Cancer Res. 39 1308 (1979) J. Hall,

Cancer Res. 37 769 (1976) 及び Proc.

Natl. Acad. Sci. USA 78 1176 (1981))。

また、ステロイドホルモンのうち、雄質コルチコイド(プレドニゾン、プレドニソン、メタメナゾン等)は白血病、悪性リンパ腫、乳癌、前立腺癌の治療に使用されている。

更に、アンドロステンを母核とする男性ホルモンであるテストステロンプロピオネート、フルオキシメステロン等が乳癌腫瘍剤として用いられており、20~30%の有効率が得られると報告されている(Osborne 10 72 (1984))。

ゾンおよびその誘導体(アセテート、ヘキサクシネート、フオスフェート、ブタルアセテート、テトラヒドロフタレート、トリメタルアセテート等)；メタルプレドニゾンおよびその誘導体(アセテート、ヘキサクシネート等)；メタメナゾンおよびその誘導体(フオスフェート、バレレート等)が挙げられる。

また、グルココルチコイドのC-11位の水素が=位置になつた異性体(たとえば、11 α -エピヘイドロコルチゾン)も含まれるし、前記グルココルチコイドのテトラヒドロ代謝物(グルココルチコイド活性の有無は関係しない)も含まれる。

更に、黄体ホルモンであるプロゲステロン、

更にまた、プロゲステロンの誘導体、テストステロンの誘導体およびエストロゲン類が前立腺癌の治療に用いられている。

前記の08 4152 と組合せ用いることのできるステロイド類は、雄質コルチコイド類、黄体ホルモン類、エストラン類及びアンドロスタン類等であり、より具体的には次のものが例示される。

(1) プレグナンを母核とするステロイドホルモン、すなわちグルココルチコイドであり、たとえばコルチゾンおよびその誘導体(アセテート、エナンテート、ウンデシレート等)；ヘイドロコルチゾンおよびその誘導体(アセテート、ヘキサクシネート、カプロエート等)；プレドニゾンおよびその誘導体；プレドニ

メドキシプロゲステロンおよびその誘導体(アセテート等)；ダイドロゲステロンおよびその17 α -アセトキシ誘導体(デュフアストン)等が挙げられる。

更にまた、メタロコルチコイドであるアルドステロン、デソキシコルチコステロンおよびその誘導体(アセテート、トリメタルアセテート、エナンテート、フェマルプロピオネート等)も挙げられる。

(2) アンドロステンを母核とするステロイドホルモン、すなわち、男性ホルモンであり、たとえば、アンドロステロン、テストステロンおよびその誘導体(プロピオネート、エナンテート、ブタレート、カプリレート等)が挙げられる。また、エピテストノールおよび

その誘導体、ヒドタオスチンがあげられる。
さらにフルオキシメステロンおよびその誘導体、メチルメステロンおよびその誘導体、メノロンおよびその誘導体も含まれる。

(3) エストランを母核とするステロイドホルモン、すなわち、性腺ホルモンであり、たとえば、エストロンおよびその誘導体、エストラジオールおよびその誘導体（ベンゾエート、ジプロピオネート、バレレート、ウンデセンエート等）、エストリオールおよびその誘導体（トリプロピオネート等）があげられる。

本発明の血管新生抑制剤の剤型としては、有効成分を医薬的に許容される媒体、賦形剤を含有する種々の形態、例えば水または各種の増液用製剤に溶解させた散剤、錠剤、錠剤

剤、錠剤、注射剤、坐剤等が挙げられる。

本発明の血管新生抑制剤がDS 4152 とステロイド剤とを含有するものである場合、これらをそれぞれ別個に上記用途の単剤に調製して混合剤とすることも、あるいは両成分を含む混合剤とし製剤化することもできる。

本発明の血管新生抑制剤は、静脈内、動脈内、経口、皮下、直腸内、粘膜内または患部局所内に投与することができる。その投与量は、成人の経口一日量で、DS 4152 としては1~2000mg程度であり、ステロイド類は男性ホルモン剤、副腎コルチコイド剤で10~1000mg、送与30~60mgが適量で、漸減していくのが好ましいことがある。プロゲステロン剤では100~1200mgが適量

に有用なものである。

(実施例)

次に実施例を挙げ、本発明を更に詳しく説明する。

実施例1 (A)

特開58-87301号に記載の方法により得られたDP 4639 (50F) を1.5Mの0.1M NaCl に溶解し、これを0.1M NaCl で平衡化したカラム（セファクリルS-300；50×80cm）にかけて同濃度にて抽出し、1.8Mずつ抽出液を集めた。得られたフラクションについて高速ゲル透過クロマトグラフィー（水泳ソーブ 93000 SWカラム、溶媒0.1M酢酸カリウム緩衝液pH 6.5）を行い、ポリド・ビニルキレートを与えず、

である。注射による投与の場合は通常経口の1/5量が適量である。

また、本発明の血管新生抑制剤を抗癌剤として用いる場合の投与方法及び用量も、上記と同一である。

(発明の効果)

本発明のDS 4152 はそれ単独でもつても血管新生抑制作用を有するが、これを更にステロイド剤と混合せるとより優れた血管新生抑制作用を有する。

したがって、DS 4152 単独でもつても血管新生抑制剤として有用であるが、更にステロイド剤と混合させたものは相乗的に作用が増強されるので、例えば癌腫血管の新生を抑制し、癌の増殖を防ぐ血管新生抑制剤として特

特開昭63-119500(7)

DS 4152 の物理化学的性質および生物学的性質をDP 4639 と比較して示す。

(d) 糖、蛋白、S および P 含量 (第1表)

第1表

	1)	2)	3)	4)
	糖 (%)	S (%)	蛋白 (%)	P (%)
DS 4152	56	11.1	1.1	0.88
DP 4639	54	10.8	1.3	0.86
N 成分	42	7.9	7.6	0.72

1) フェノール-硫酸法 (ガラクトース換算)

2) アントノビチス法 (C.A. Antospectrosc.,
Acta Chem. Scand. 16, 1521 (1962))
による

3) ローリー-フォリン法 (牛血清アルブミン換算)

4) ケエンらの方法 (P.S. Chen et al., Anal. Chem.
38, 1756 (1956)) による

分子量 (ゲストラン標準) が約 2×10^4 ~ 8×10^4 の範囲に属するフラクションを調り (約 700 ml)、脱イオン水に対して透析した。透析内液を約 50 ml で濃縮後ろ過した。ろ液を約 400 ml のエタノール中へ沈降下層下して、生成した沈降を調り、これを 90% エタノール、エタノール、アセトンの順に洗った後、減圧乾燥 (50℃, 6 時間) して目的物の DS 4152 の白色粉末 3.8 g を得た。

一方、上記高速ゲル透過クロマトグラフィーでポリド・ポリニウムにピークを有するフラクションを調り (約 90 ml)、上述の DS 4152 の場合と同様に処理して、N 成分を白色粉末として 0.16 g を得た。

(d) ガラクトース、グルコース、保護基および糖の組成モル比

試体を 1 規定塩酸中 100℃ で 5 時間加水分解しイオン交換樹脂で脱塩処理した後、常法によりアルジトールアセテートとしてガスクロマトグラフィーで分析した。また、保護基および糖のモル比は、S および P の含量 (%) から算出した。

第2表

	ガラクトース	グルコース	保護基	糖
DS 4152	0.1	1.0	7.3	0.6
DP 4639	0.2	1.0	7.3	0.6
N 成分	0.2	1.0	0.9	0.6

第2表は、グルコースを 1.0 モルとした場

合の各成分のモル比の 1 例である。

(d) 糖のアミノ酸およびアミノ糖の同定

DS 4152 を 3 規定塩酸中、100℃ で 16 時間加水分解した後、常法によりアミノ酸分析計にて分析した結果、アラニン、グリシン、グルタミン酸、シアミノピロリドン酸、グルコサミンおよびムラミン酸のピークを認め、

(d) 比旋光度: $(\alpha)_D^{20}$ ($c=0.5$, 水)

第3表

	比旋光度
DS 4152	-37
DP 4639	-36
N 成分	-34

(d) ゲル透過層出パターン

第1図、第2図および第3図に、それぞれ

特開第63-119500(8)

あると推定される。

(N) 発熱性試験

日本薬局方(第10改正)に準じて行つた発熱性試験の結果を第4表に示す。

DS 4152、DP 4639 及びH部分の高濃ゲル透過クロマトグラムを示す(東洋ソーダ製63000 8#カラム使用、溶媒Q1、移動相カリウム緩衝液、pH 6.5、0.9 ml/分、標準物質デキストランT-10 及びT-40)。

(i) 紫外吸収スペクトル

2 mg/ml水溶液において220~340 nmに極大吸収は認められず。

(ii) 紫外吸収スペクトル (KBr錠)

1240、840 (肩) 及び810 cm^{-1} に、炭水化物に特徴的な吸収を示す。

DS 4152 の構造としては、主としてD-ガラクトースとD-グルコースから成る糖質部分にムライン酸フェスフェートを介してメチルグリカン部の結合した炭水化物多糖体

以下空白

試 体	用 量 mg/10ml	体外上昇度					
		調製	計	+	+	+	+
DS 4152	75	Q20	Q10	Q16	Q45		
H 部分	375	Q20	Q60	Q20	Q90		
	15	165	125	140	420		
	75	140	200	180	520		
	15	190	140	220	550		
	75	150	175	265	620		

・+ (調製) ・- (融注)

(i) DS 4152 の急性毒性(マウス、静注)は、LD₅₀が2000 mg/kg以上であった。

実施例1 (加)

DP 4639 (2.0 g) を300 mlの水-エタノール(10:3)溶液に溶解し、YM10 膜(4.15 μm 、アイコン社製)を用いて、室温で加圧(1.5 kg/ cm^2)下、室温で限外ろ過した。上記ろ過液を追加しながら透過液量が約3 Lとなるまで実施した。透過液の濃縮液(約50 ml)に100 mgの酢酸ナトリウムを加えて溶解した後、遠心分離により得られる上清を約500 mlのエタノール中へ浸漬・下した。生成した沈澱を集め、90%エタノール、エタノール、アセトンの順に洗った後、減圧乾燥(55℃、5時間)してDS 4152

特開第63-119500(10)

この結果から明らかのように、用量依存的な血管新生抑制作用が認められた。

実施例6

血管新生阻止作用 (in vivo 法) :

実施例5と同様に、ステロイドと

DS 4152 を併用した場合の効果について調べた。ステロイドとしては、酢酸コルチゾン 50 mg/kg の割合で用い、DS 4152 は 300 mg/kg 又は 3000 mg/kg とするよう調整して加えた。また、比較と CDF 4639 及びE 画分を用いた。この結果を第8表に示す。なお、表中の数値は、生理食塩水を同量投与した対照マウスより採取した血液を添加した尿原尿血管の発達度を100%とした時の阻止率である。

酢酸コルチゾンで尿原を阻止し、これを逆療法と同様に5日間の受胎期尿原尿に追加、2日後に血管新生に及ぼす効果を確認した。結果は、同量の生理食塩水のみを投与したマウスの、6時間経過後の血液を加えた場合の尿原尿血管の発達度を対照とし、阻止百分率で示した。この結果は第9表の通りである。

以下余白

実施例5

血管新生阻止作用 (in vivo 法) :

DS 4152 を生理食塩水に溶解し、ICR系雄マウスに皮下もしくは経口で投与し、6時間後に血液を採取した。0.313%ナトリウムで尿原を阻止し、逆療法と同様に5日間の受胎期尿原尿に追加し、2日後に判定した。この結果を第7表に示す。

第7表

投与ルート	投与量 (mg/kg)	血管新生阻止率 (%)
経口	3	-59
	30	264
	300	627
皮下	3	16
	30	376
	300	661

第8表

投与ルート	DS 4152	DF 4639	E 画分
皮下	92.2%	83.3%	86.6%
経口	92.7%	86.6%	62.6%

DS 4152 及び DF 4639 は経口、皮下いずれの経路によっても尿原尿血管新生を抑制することが認められた。

実施例7

血管新生阻止作用 (in vivo 法) :

ICR系雄マウスに、生理食塩水に溶解した DS 4152 を経口投与した。ステロイドは、DS 4152 と共にまたは単独で、生理食塩水に溶解して経口または筋肉内投与した。投与6時間後に採血し、0.313%ナトリウム

表 9

薬剤名 (ルート)	投与量 (mg/kg)	DS 4152 投与量 (mg/kg; p.p.)	血中新生児阻止率 (%)
コージン/アセチル (p.p.)	0	0	77
		30	75.1
チトラハイデス (p.p.)	1	0	-26
		30	71.7
	5	0	-123
		30	80.7
エビタス/ノル (l.m.)	0	0	40
		30	52
	50	0	184
		30	234
	100	0	242
		30	370

実施例 8

試験方法:

CS78L/6 雄マウスに同系の雌鼠由交配水腫毒 MS076 を 1×10^6 個皮下接種し、3 日目より DS 4152 を 30 mg/kg 1 日 1 回 6 回皮下投与したところ、著大な抗腫毒効果と生存日数の有意な延長が認められた。すなわち第 10 表に示すように接種 21 日目の腫瘍平均重量は対照群の 37% (63% 抑制) であり、かつノディアン生存日数が対照群より 33% 延長した。

腫瘍平均重量は、腫瘍其の長軸と短軸の長さを測定し、以下の式から求めた。

$$\text{腫瘍平均重量} = (\text{長軸}) \times (\text{短軸})^2 \times \frac{1}{2}$$

実施例 9

試験方法:

ICR 系雄マウス (5 週齢) にアルコーマ 180 (8180) を 1×10^6 個皮下接種し、3 日目より酢酸コージンの生理食塩水懸濁液を 250 mg/kg / 日の割合で 3 日間、 100 mg/kg / 日の割合で 1 日投与した。

DS 4152 は生理食塩水に溶解し、0.61 もしくは 0.1 mg/マウスとなる量 1 日 1 回皮下もしくは腹腔にて 4 日間投与した。接種 7 日目に屠殺して腫瘍重量を対照と比較したところ第 11 表に示す如く酢酸コージンのみで投与した群では腫瘍重量は生理食塩水投与群と差がなかったが、さらに DS 4152 を投与することにより腫瘍増殖阻止作用が得ら

表 10

腫瘍系	群	投与量 (mg/kg)	腫瘍重量 (mg)	生存率 (%)
MS076	対照群	0	230 ± 0.18 (100)	0
	DS 4152 投与群	30	0.90 ± 0.09 (37)	33

(a) 接種 21 日目の平均腫瘍重量 ± 標準偏差、(b) は平均生存率。

(c) (a) 腫瘍重量とノディアン生存日数/対照群のノディアン生存日数 - 1) $\times 100$

れ、対照剤の純度重量の60～125%であつた。

表11例

試 料	純度重量	
	平均値±標準偏差	T/C%
生理食塩水 (p.p.)	Q361±Q191	1000
生理食塩水 (s.s.)	Q361±Q122	1000
酢酸コチゾン	Q340±Q162	942
DS 4152 (Q61mg/..... p.p.)	Q361±Q070	1000
DS 4152 (Q1mg/..... p.p.)	Q261±Q077	723
DS 4152 (Q61mg/..... p.p.) +酢酸コチゾン	Q063±Q016	175°
DS 4152 (Q1mg/..... p.p.) +酢酸コチゾン	Q028±Q011	74°
DS 4152 (Q61mg/..... s.s.)	Q322±Q071	824
DS 4152 (Q1mg/..... s.s.)	Q358±Q115	808
DS 4152 (Q61mg/..... s.s.) +酢酸コチゾン	Q063±Q036	161°
DS 4152 (Q1mg/..... s.s.) +酢酸コチゾン	Q036±Q016	69°

°P<Q05, °°P<Q01 ステューデントt-検定による

試料を注射剤とする。

実用例12

製剤:

DS 4152 6mg、アレフェゾン20mg、
乳糖50mg、トクモコシアンテン155mg、
カルシウムカルシウム30mg及びヒドロキシ
アミン酸マリン酸0.5mgを常法に従つて
配合、打錠し、1錠とする。

4. 図面の簡単な説明

第1図をいし第4図は高速ゲル透過クロマトグラムである。

以 上

実用例10

製剤:

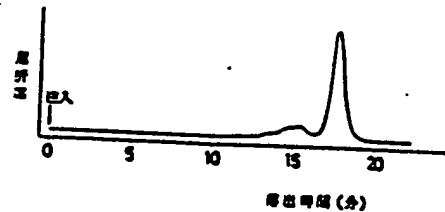
DS 4152 6mg、乳糖300mg、トクモコ
シアンテン144mg、カルシウムカルシウム
30mg及びヒドロキシア
ミン酸マリン酸30mgを用い、常法に従つ
て500mgの錠剤を調製した。この錠剤
は錠状にあわせて1850.0mg～5mgを服用
する。

実用例11

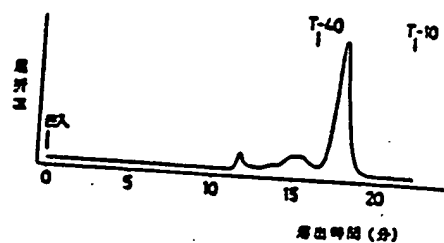
注射剤:

DS 4152 12mg、塩化ナトリウム90
mgを注射用蒸留水に溶解し、10mlとする。
この溶液をノンブランフィルターでろ過した
後、アンプルに充填し、115℃で30分間

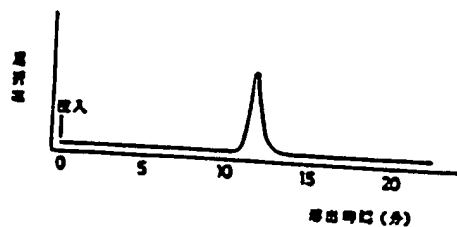
第1図



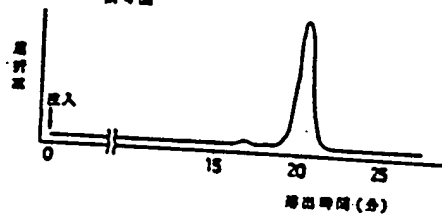
第2図



第3図



第4図



第1頁の続き

④Int. Cl.⁴

A 61 K 31/723
37/02
C 08 B 37/03
C 12 P 19/04
// (A 61 K 31/723
31:56)

識別記号

ADU
ABE

庁内整理番号

8615-4C
6779-4C
C-8515-4B
7252-4C

発明者 小 河 秀 正

東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第一製薬中央研究
所内